

THESIS BONN 1968

UNTERSUCHUNGEN ÜBER MINERALART UND
KRISTALLINITÄTSGRAD IM KNOCHEN IN
ABHÄNGIGKEIT VON ALTER UND LOKALISATION

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu Bonn

vorgelegt von
Joachim Artur Bliesener
aus Berlin

Bonn 1968

UNTERSUCHUNGEN ÜBER MINERALART UND
KRISTALLINITÄTSGRAD IM KNOCHEN IN
ABHÄNGIGKEIT VON ALTER UND LOKALISATION

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu Bonn

vorgelegt von
Joachim Artur Bliesener
aus Berlin

Bonn 1968

Angefertigt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Bonn

Referent: Dr. K. J. Münzenberg

Koreferent: Professor Dr. H. Rössler

Tag der mündlichen Prüfung: 28. 5. 1969

Aus der Orthopädischen Universitätsklinik Bonn
Direktor: Professor Dr. H. Rössler

Meinen Eltern



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153520_0049

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

- A. Einleitung: Die Zusammensetzung des Knochens
und seine Minerale
 - B. Methodik
 - C. Röntgenographische Untersuchungen
 - D. Ergebnisse mit Tabelle
 - E. Besprechung der Ergebnisse
 - F. Unterschied zwischen Epi-, Meta- und Diaphyse
 - G. Kristallinität
 - H. Klinische Schlußfolgerungen
 - I. Zusammenfassung
- Literaturverzeichnis

Untersuchungen über Mineralart und Kristallinitätsgrad
im Knochen in Abhängigkeit von Alter und Lokalisation.

A. Einleitung

Der Knochen ist zusammengesetzt aus organischen und anorganischen Komponenten. Die Konstruktion des Knochens ist derart, daß sie bis ins Ultrastrukturelle hinein zwei Aufgaben gerecht wird, nämlich den mechanischen Schub- und Scherkräften Widerstand zu leisten, als auch in kürzester Zeit Ionen ein- und wieder auszulagern.

Das Verhältnis zwischen den organischen und anorganischen Anteilen des Knochens variiert von einem Teil des Skeletts zum anderen und ebenso von einer mikroskopischen Struktur zur anderen.

(CARLSTRÖM)

Der wasserfreie Knochen besteht zu etwa 30% aus Eiweiß und zu ca. 70% aus anorganischen Bestandteilen. Nach DALLEMAGNE setzt sich der wasserfreie Knochen aus einem organischen Anteil mit:

6% Mucoproteiden (Osteoid-Osteomucoid)

94% kollagenen Fasern und

einem anorganischen Anteil mit:

85% Calciumphosphat

10% Calciumcarbonat und

5% Magnesium und Alkalisalzen

zusammen.

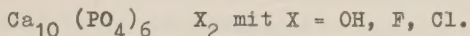
Der organische Anteil besteht aus Kollagen, das röntgenkristallographisch keine Unterschiede zeigt zu dem anderen Ursprungs. Die anorganische Phase besteht aus einem Calciumphosphat, welches keinen einheitlichen Charakter trägt. Kristallographisch trägt der Hauptanteil die Strukturcharakteristika des Apatits.

Seit ca. eineinhalb Jahrhunderten bezeichnet man eine wichtige mineralogische Gruppe als Apatite: etymologisch stammt dieses Wort von dem griechischen *ἀπατῶ* = ich täusche, weil der Apatit oft mit anderen Mineralen, wie zum Beispiel Aquamarin und Olivin

verwechselt wurde.

Apatit ist über die ganze Welt weit verbreitet. Er findet sich in fast allen sauren Eruptivgesteinen in Form von prismatischen oder auch nadeligen Kristallen. Seine Farbe kann braun, gelb, grün, violett oder auch bläulich sein. Im allgemeinen ist es so, daß der Farbton durch den Einschluß von gitterfremden Ionen bestimmt wird.

Nur selten hat der Apatit eine Zusammensetzung, die folgender stöchiometrischen Formel entspricht:



Kristallographisch gehört der Apatit zur hexagonalen dipyramidalen Gruppe, das heißt, daß man in den Apatitkristall neben einer sechszähligen Hauptachse (Drehachse) -c- drei in einer Ebene unter 120° liegende Nebenachsen -b- legen kann, (siehe Abbildungen 1.2.3.)

Die Struktur des Apatits wurde im Jahre 1930 von MEHMEL und NARAY-SZABO unabhängig voneinander aufgeklärt. Seine Elementardimensionen werden von POSNER mit $a=b=9,432 \text{ \AA}$ und $c=6,88 \text{ \AA}$ -Einheiten angegeben. Diese Werte differieren bei den einzelnen Autoren, und für Robinson (1951, 1952) beträgt $a=9,47 \text{ \AA}$.

Wir legten unseren Berechnungen die Werte der ASTM-Kartei zugrunde mit:

$$a_0 = 9,42 \text{ \AA}, \quad c_0 = 6,94 \text{ \AA}.$$

Nicht nur in der Natur sondern auch im Knochen liegen nicht-stöchiometrische Verbindungen des Apatits vor.

An der Existenz des Apatites im Knochen ist seit Jahrzehnten gezweifelt worden. Erst in letzter Zeit nimmt HAYEK an, daß das Mineral des Knochens nicht einzig aus Apatit besteht, sondern vielmehr aus einem sogenannten Carbonatoctocalciumphosphat.

Nach neueren Untersuchungen gibt es nicht nur ein Mineral im Knochen, vielmehr scheint es so zu sein, daß neben dem Hydroxylapa-



Abbildung 1

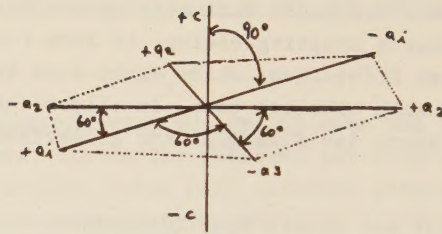


Abbildung 2

- Hexagonales Gitter - (nach KLEBER)

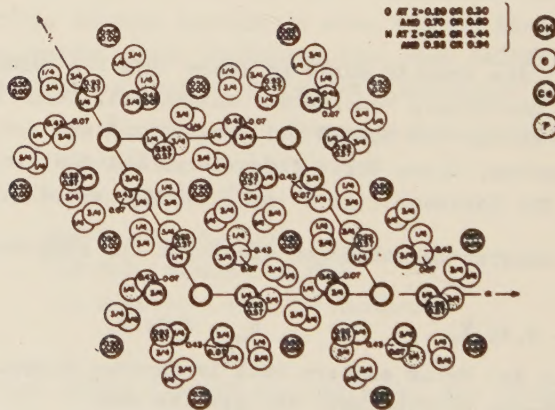


Abbildung 3 -Die Struktur des Hydroxylapatits als Projektion auf die Basalebene gesehen. Die Werte in den Atomen geben ihre jeweilige Höhe zur c-Achsenrichtung an (senkrecht zur Bildebene) (nach POSNER)

tit --- gegebenenfalls auch neben dem Carbonatoctocalciumphosphat --- Octocalciumphosphat und auch Brushit ($\text{CaH Po}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) vorliegen.

Wahrscheinlich ist bei der Knochenmineralbildung anzunehmen, daß häufig als erste Phase das Brushit auskristallisiert, welches dann durch Umkristallisation in Octocalciumphosphat oder Hydroxylapatit übergeht (BROWN). Nach BROWN ist Octocalciumphosphat kristallographisch aufgebaut aus einer Schicht Apatit, parallel zur ac-Ebene gelagert, und einer Zwischenschicht aus Wasser. Es ist aber nun nicht so, daß ein jedes Calciumphosphat in Hydroxylapatit umkristallisiert werden kann, es scheint vielmehr so zu sein, daß sich Apatitkristalle auch direkt unter bestimmten kristallographischen Voraussetzungen bilden können (wie bei bestimmter Übersättigung, geminderter Viskosität und höherem pH).

Wahrscheinlich aber sind die so entstandenen Kristallite schon durch ihren äußeren Habitus von denjenigen Kristallen, die an der kollagenen Fibrille durch Epitaxie entstehen, zu unterscheiden: die durch Übersättigung entstandenen Kristalle sind wahrscheinlich größer und haben einen anderen Habitus: sie sind tafelförmig.

"Unter Epitaxie versteht man eine gesetzmäßige Verwachsung ungleichartiger Kristalle. Sie ist gekennzeichnet durch eine bestimmte gesetzmäßige Orientierung zweier miteinander verwachsener Kristalle, wobei mindestens eine Kristallfläche und eine Zonenrichtung beiden gemeinsam sein muß. Die Ursache der orientierten Verwachsung liegt in der weitestgehenden Übereinstimmung bestimmter Gitterdimensionen der miteinander verwachsenen Kristalle; vorwiegend wird eine zweidimensionale Analogie im Gitterbau festgestellt." (KLEBER)

Bei der in-vitro-Bildung von Hydroxylapatiten nach der Methode von HAYEK und STADELMANN haben EANES und Mitarbeiter zwei verschiedene kristalline Phasen beobachtet, die sich durch einen unterschiedlichen Kristallinitätsgrad auseinanderhalten ließen, außerdem eine amorphe, das heißt nicht-kristalline Substanz, die

sich als erste abscheiden soll. Nach und nach soll sich, nach diesen Autoren, über eine praeapatitische Phase typischer Hydroxylapatit unter gleichzeitigem Anwachsen der Durchschnittsgröße der einzelnen Kristalle bilden. EAMES und Mitarbeiter nahmen an, daß dieses Wachstum durch Auflösen von kleineren, leichter löslichen Kristallen und Wiederablagerung des aufgelösten Materials an wachsenden Flächen von größeren, weniger löslichen Kristallen vor sich geht.

Diese Versuche wurden allerdings unter einem unphysiologischen p_H von 10,5 durchgeführt und mit erhöhten Konzentrationen der miteinander reagierenden Substanzen; Konzentrationen, wie sie im lebenden Organismus nicht beobachtet werden.

Nach TERMINE und POSNER ist ein nichtkristallines Calciumphosphat nicht nur in vitro, sondern auch in vivo nachweisbar. Sie wiesen diesen amorphen Anteil infrarotspektroskopisch semiquantitativ nach, und sie glauben, daß er vom Alter der Knochensubstanz abhängt.

TERMINE und POSNER schlossen daraus, daß mit steigendem Alter die kristalline Phase gegenüber der amorphen zunehme. Im reifen Knochen solle ein Verhältnis der kristallinen zur nichtkristallinen Phase von ungefähr 2:1 bestehen. TERMINE und POSNER sprechen auch, nicht ganz exakt, von einem amorphen Anteil als von einem Mineral. Sie nahmen an, daß das Mineral der Epiphyse nur zu 20% kristallin sei, während in der Metaphyse das Mineral zu etwa 60% in kristalliner Form vorliegen soll.

Unsere Untersuchungen sollten zu der Frage Stellung nehmen, ob ob ein unterschiedlicher Kristallinitätsgrad zwischen Epiphysen, Meta- und Diaphysen nachzuweisen ist, und ob gegebenenfalls sich auch diese drei Regionen hinsichtlich ihrer Kristallart und Zusammensetzung in Bezug auf das Alter unterscheiden.

In den Metaphysen muß nach physiologischen Voraussetzungen jüngerer Knochen sich vorfinden als in der Diaphyse, da der Knochen bekanntlich von den Epiphysenfugen aus in Richtung Diaphyse über die Metaphysen hin wächst. So müßte man annehmen, wenn man BRUSHIT als "jüngeres" Mineral gegenüber dem Hydroxylapatit ansieht, daß es in der Metaphyse sich häufiger finden läßt als in der Diaphyse. Vom pathophysiologischen Standpunkt aus gesehen wäre es durchaus verständlich; denn gerade der Metaphysenbereich ist es, in dem sich schnellwachsende Sarkome und andere Knochen-erkrankungen, beispielsweise das nicht ossifizierende Fibrom, die juvenile und die aneurysmatische Knochenzyste, gehäuft vorfinden.

B. Methode

Mehrere einhalb Jahre und anderthalb Jahre alte Kaninchen aus je einem Wurf wurden getötet. Zur Kontrolle diente ein Knochenstück aus der regio intertrochanterica eines Femur einer 65-jährigen männlichen Leiche.

Die Kaninchenextremitäten wurden entnommen und grob von den anhaftenden Bindegewebs- und Fetteilen befreit. Es erfolgte eine Trennung in Epi-, Meta- und Diaphyse. Mit Hilfe der Acetonätherextraktion wurde das restliche Fett entfernt. Von einer Entfernung des Kristallwassers bei 105° , wie es in der Knochenphysiologie bei Untersuchungen allgemein üblich ist, wurde deshalb abgesehen, weil dabei Kristallwasser entfernt wird und Brushit unter diesen

hohen Temperaturen seine Existenzbedingungen verliert (NEWSELY).

NEWSELY stellte fest, daß Brushit (Calciumhydrogenphosphat-Dihydrat) im gesamten pH-Bereich entsteht, jedoch oberhalb pH=6,3 bei physiologischen Bedingungen (Temperatur ca. 40°C) in Octocalciumphosphat umgewandelt wird. Zwischen pH=5,0 und 6,0 erfolgte diese Umsetzung erst bei höheren Temperaturen (60-70°C).

Die Existenzbedingungen des Octocalciumphosphates umfassen somit den pH-Bereich von 5,0-7,0 und den Temperaturbereich von 30-70°C.

Der so vorbehandelte Knochen wurde dann in einem Achatmörser zunächst mit der Hand zerkleinert und anschließend in einer Achatkugelmühle zu feinstem Staub zermahlen. Die bei der Reibung auftretenden Wärmegrade betrugen nie über 40°C. Eine Entfernung von organischen Bestandteilen wurde deshalb nicht durchgeführt, weil jede chemische Veränderung der anorganischen Phase vermieden werden sollte.

C. Röntgenographische Untersuchungen

Es ist unmöglich, im vorliegenden Rahmen die röntgenographischen Untersuchungen von Kristallen hier in seiner ganzen Ausführlichkeit wiederzugeben. In diesem Zusammenhang muß auf die einschlägige Literatur, insbesondere auf die Monographie von HENRY, LIPSON und WOOSTER hingewiesen werden.

Man bedient sich in der Kristallographie deshalb der Röntgenbeugungsverfahren in besonderem Maße, weil die Wellenlängen der Röntgenstrahlen in etwa in der gleichen Größenordnung liegen, wie die Abstände im Kristallgitter: ca. $1 \text{ \AA}$.

Unter den entwickelten Röntgenverfahren haben die von LAUE und BRAGG eine vielseitige praktische Anwendung gefunden. Besonders anschaulich ist die BRAGG'sche Methode:

Man verwendet bei diesem Verfahren ein Bündel paralleler Röntgenstrahlen gleicher Wellenlänge (das heißt also einfarbiges monochromatisches Röntgenlicht). Fällt nun ein Röntgenstrahlbündel auf eine Netzebenenschar eines Kristalls unter einem Winkel θ , so werden die einzelnen Röntgenstrahlen an den einzelnen Kristallflächen oder Kristallpartikeln gebeugt.

Wenn also dieses Röntgenlicht unter einem von 0° abweichendem Winkel θ (Glanzwinkel) auf dichtbesetzte, aufeinanderfolgende Netzebenen (E, E', E''), die den gleichen Abstand d in paralleler Lage zeigen, fällt, so wird ein Teil des eindringenden Lichts von den einzelnen Netzebenen reflektiert; sie wirken gleichsam als Spiegel, und unter bestimmten Voraussetzungen können Interferenzen auftreten, wie sich diese auch bei der Reflexion gewöhnlichen Lichts an dünnen Schichten ergeben. (siehe Abbildung 4)

Für die Bedingung der Reflexion und Interferenz der Röntgenstrahlen läßt sich ableiten: der in A an der Ebene E reflektierte Strahl interferiert mit dem von G an der Ebene E' reflektierten Strahl, wenn der Wegunterschied ein ganzes Vielfaches der Wellenlänge ist. Der Wegunterschied entspricht der Länge GA-GD, wobei

DA GF. Da nun $GA=GF$, errechnet sich der Wegunterschied aus $2d \cdot \sin \theta$; d gibt die Abstände der gleichbelasteten Netzebenen an.

Ist nun $2d \cdot \sin \theta = n \lambda$ (λ -die Wellenlänge, $n=1,2,\dots$), so entsteht jeweils eine maximale Intensität der interferierenden Reflexionswellen (BRAGG-sche Gleichung).

Der zu den einzelnen Glanzwinkeln zugehörige Wert $n = 1,2,3,\dots$ bezeichnet die Interferenzen 1., 2., 3. Ordnung; sie sind durch einen charakteristischen Intensitätsabfall ausgezeichnet. θ ist der sogenannte Glanzwinkel. Mit Hilfe obiger Gleichung lassen sich nun bei bekanntem λ die Netzabstände (d) bestimmen und damit wichtige Strukturgrößen.

Wir bedienen uns bei unseren Untersuchungen des sogenannten Zählrohrverfahrens. Während bei der Filmmethode die verschiedenen Reflexe gleichzeitig auf dem Film registriert werden, fährt bei dieser Methode das Zählrohr einen Glanzwinkelbereich mit konstanter Geschwindigkeit ab, wobei die vom Zählrohr ermittelten reflektierten Röntgenquanten proportional verstärkt und mittels eines Milliampereschreibers registriert werden. Es entstehen dann nicht etwa Bilder, wie wir sie von den Filmmethoden her gewöhnt sind, sondern jeder einzelne Glanzwinkel erscheint auf einem Papierstreifen als sogenannter "peak" (Spitze).

Wir verwandten das Zählrohrdiffraktometer nach JUMPERTZ (siehe Abbildung 5).

Das Zählrohr besteht aus einem gasgefüllten Metallzylinder, in dem axial ein dünner Metalldraht eingespannt ist. Im Zählrohr befindet sich ein Druck von ca. 50 mm Hg, und zwischen Innenwand und Draht wird eine Spannung von 1 bis 2 KV angelegt.

Jedes Röntgen-Lichtquant, das durch eine dünne Metallfolie in das Zählrohr eindringt, ionisiert das Gas. In dem hohen elektrischen Feld entstehen durch Stoßionisation weitere Ionen, so daß zwischen Zylinder und Draht ein Entlastungsstoß auftritt. Die Stromstöße können verstärkt und registriert werden. Die Anzahl der re-

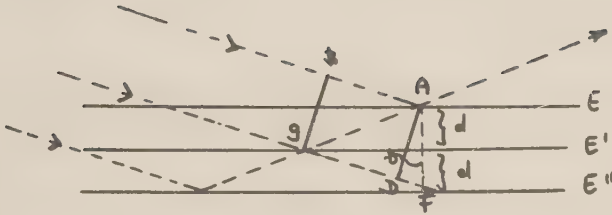


Abbildung 4: BRAGG'sche Methode (nach KLEBER)

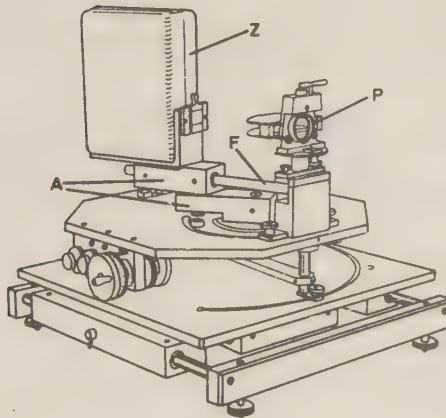


Abbildung 5: Zählrohrrefraktometer nach JUMPETZ

gistrierten Stöße, die zum Beispiel durch ein Zählwerk aufgenommen werden kann, ist der Strahlungsintensität proportional. Die Ermittlung der Intensität kann auch so erfolgen, daß der Mittelwert des durch das Zählrohr fließenden und verstärkten Stromes, der einen Kondensator auflädt, mit Hilfe eines Milliampereometers gemessen wird. Die Anzeige eines Amperemeters kann automatisch registriert werden, während das Zählrohr gleichzeitig das Beugungsspektrum abtastet.

Die Bestimmung der Beugungswinkel θ und der relativen Intensitäten der Interferenzen ist genauer als bei photographischen Verfahren üblicher Art.

Bei der Bestimmung der Bestimmung der Kristallitgröße durch Röntgendiagramme an Teilchengrößen bedient man sich der sogenannten SCHERRER-Formel mit:

$$t = \frac{K \cdot \lambda}{\Delta \cdot \cos \theta} ,$$

wobei t = Teilchengröße. K = Korrekturfaktor.

Für K wurde in unserem Falle 0,89 zugrundegelegt und damit ein würfelförmiger Habitus der Kristalline unterstellt. Es kam uns nicht auf exakte Werte an sondern auf die Bestimmung einer annähernden Größenordnung ($\pm$ 30-40%).

Unter Halbwertsbreite versteht man die Breite eines "peaks" in der Hälfte seiner Höhe. (siehe Abbildung 6)

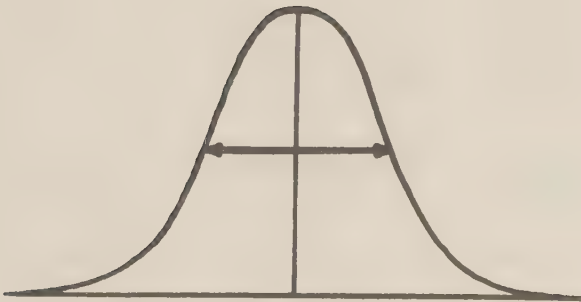


Abbildung 6: Schematische Darstellung der Halbwertsbreite
(nach KLEBER)

D. Ergebnisse

Bei unseren Untersuchungen konnten folgende Reflexe beobachtet werden: (Tabelle)

Proben I - IV

1/2	1/2	1/2	1/2	Apatit	OCP
Meta	Meta	Epi	Dia		
I	II	III	IV		
3,4502 4	3,4502 4	3,4502 4	3,4502 4	3,40	3,43
2,8155 6	2,7608 6	2,8081 5,5	2,8047 6	2,77	2,83
2,3587 5,5	2,3587 6	2,3599 6	2,3587 6		2,33
2,0394 6,5	2,0403 6	2,0386 6	2,0403 7	2,05	
1,4399 2,5	1,4399 1,5		1,4391 2	1,44	
1,2274 3,5			1,2266 5	1,22	

Proben V - IX

11/2 Epi V	11/2 Dia VI	11/2 Dia VII	11/2 Meta VIII	11/2 Meta IX	Apatit	OcP
3,4502 5	3,4454 4	3,4454 4	3,4502 4	3,4502 4	3.40	3,43 4
2,8081 6	2,8047 6	2,7995 6	2,8081 6	2,8047 6	2.77	2,83
2,3587 6	2,3587 5	2,3563 6	2,3587 6	2,3587 6		2,33
2,0394 6	2,0403 7	2,0386 6	2,0403 7	2,0403 6	2.05	
1,4395 2	1,4399 2	1,4395 2	1,4395 2	1,4395 2	1,44	
					1,22	
1,8426			1,8458	1,8433		
1,9499	1,942	1,943	1,9473	1,9457		
2,2684	2,2684	2,2629	2,2651	2,2629		
Acide Calcium orthophosphate trihydrate: 11.184						
1,86 - 3,43	2,04 - 2,83	- 2,33	- 1,86			

1) Ein Teil der Reflexe mußte dem Apatit, ein anderer Teil dem Octocalciumphosphat zugeordnet werden. Octocalciumphosphat war bei allen Proben deutlich nachweisbar. Die ihm zugehörigen Reflexe schienen in jüngeren aber stärker ausgeprägt zu sein, als in älteren Knochen. Eine sichere quantitative Bestimmung der Octocalciumphosphat-Phase war nicht möglich, weil die Reflexe relativ breit waren und somit die Kristalle unterhalb einer bestimmten Größenordnung lagen, bei der quantitative Messungen erst möglich werden. Das bedeutet also, daß erst eine bestimmte Kristallitgröße vorhanden sein muß, bevor man die Kristallite röntgenologisch exakt erfassen kann.

2) Auffallend war, daß ein deutlicher Unterschied zwischen einem halb- und einem anderthalbjährigen Knochen bestand, insofern, als in jüngeren Knochen weniger Reflexe zu beobachten waren, als es in dem anderthalbjährigen Knochen der Fall war.

3) Ein Unterschied zwischen dem anderthalbjährigen und dem 65-jährigen Knochen war jedoch nicht mehr nachzuweisen. Kristallographisch bedeutet dieser Befund, daß im älteren Knochen mehr Kristalle vorliegen, gleichzeitig aber auch größere Kristalle.

Nach einem gewissen Alter nimmt dann aber die Kristallitgröße nicht mehr zu, das heißt: ein gewisser Endzustand im Kristallwachstum ist erreicht.

4) Ein unterschiedlicher Mineralgehalt in Epi-, Meta- oder Diaphyse konnte nicht festgestellt werden. In allen drei Knochenabschnitten wurden Octocalciumphosphat und Apatit nachgewiesen. Die relativen Intensitäten der beiden Minerale wechselten nicht von Knochenregion zu Knochenregion.

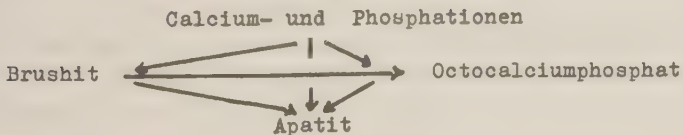
E. Besprechung der Ergebnisse

Auch in der Mineralphase des Knochens findet sich ein lebendiger aktiver Stoffwechsel. Nach DICKSON und PERKINS werden innerhalb von 50 Tagen etwa 29% des anorganischen Phosphates von Ratten-epiphysen erneuert. Die physiologischen An-, Ab- und Umbauvorgänge sind in der Metaphase am größten und für die einzelnen Knochen unterschiedlich. In der Literatur werden die Vorgänge der Mineralsalzbildung im allgemeinen physikalisch-chemisch zum Ausdruck gebracht. Es muß jedoch von vorneherein in diesem Zusammenhang daran erinnert werden, daß auch energetische und zellstoffwechselaktive Gesichtspunkte bei der Bildung von Knochenmineralien berücksichtigt werden müssen.

Im Vorliegenden kann das natürlich nicht geschehen, sondern wir setzen uns mehr mit den statischen Problemen auseinander.

Im Knochen konnten eindeutig von uns Octocalciumphosphat und Apatit nachgewiesen werden. Der Nachweis von Brushit ($\text{CaH-PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) gelang uns nicht. Dennoch kann an der Existenz von $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ auch im Knochen kein Zweifel bestehen, zumal er schon röntgenologisch in sehr jungen Knochen nachgewiesen wurde. Wahrscheinlich aber ist es so, daß diese Substanz sehr schnell in Octocalciumphosphat oder Hydroxylapatit umkristallisiert wird und es aus diesem Grund sehr schwierig ist, es nachzuweisen, weil es nur eine intermettierende Phase darstellt.

Aus kristallographischen Gründen ist sehr wahrscheinlich, daß die Bildung von Hydroxylapatit, im Knochen, wie im Reagenzglas, nach folgendem Schema sich vollzieht:



Octocalciumphosphat war in allen Proben eindeutig und in verhältnismäßig großer Menge nachweisbar.

Im jüngeren Knochen schien es in größeren Mengen vorzuliegen, als im älteren. Das entspricht auch den allgemeinen kristallographischen Vorstellungen. Vom Octocalciumphosphat nimmt BROWN an, daß es in Hydroxylapatit umkristallisiert. Dieser Vorgang ist beim jüngeren noch wachsenden Knochen stärker ausgeprägt, als beim älteren.

McGREGOR und BROWN vermuten, daß das Wachstum von Hydroxylapatitkristallen abhängig ist von einem Mechanismus, bei dem Octocalciumphosphat den auslösenden Faktor darstellt. Sie glauben, daß das Knochenmineral zuerst als Octocalciumphosphat geformt wird und sich dann mit zunehmendem Alter spontan durch Hydrolyse in Hydroxylapatit umwandelt.

Octocalciumphosphat hat vom knochenphysiologischen Standpunkt aus gesehen in der letzten Zeit an Interesse gewonnen, insofern, als BROWN und McGREGOR das Octocalciumphosphat für die Höhe des Phosphatspiegels im Serum verantwortlich machen.

Jüngere Individuen haben bekanntlich einen höheren Phosphatspiegel (6 mmol/l) als ältere (3 mmol/l), wobei 6 mmol/l und 3 mmol/l als Extremwerte anzusehen sind. Es ist hier nun wahrscheinlich so, daß nicht das Octocalciumphosphat als solches für die Höhe des Phosphatspiegels verantwortlich zu machen ist, sondern vielmehr Umbauvorgänge und Rekristallisationsphänomene des Octocalciumphosphates in den Hydroxylapatit, so daß man sagen kann, daß die Höhe des Phosphors im Serum die Menge an Umbauvorgängen im Knochen widerspiegelt.

In der Tat ist es ja zum Beispiel bei der Rachitis so, bei der im Knochen nur wenig Kristalle umgebildet werden, und damit wenig Octocalciumphosphat in Hydroxylapatit, daß bei dieser Krankheit ein niedriger Phosphatspiegel im Serum, umgekehrt beim Erwachsenen, der multiple Knochenbrüche erlitten hat, also erst neuer Knochen (Callus) gebildet werden muß, der Phosphatspiegel entsprechend steigt.

F. Unterschied zwischen Epi-, Meta- und Diaphyse:

Ein prinzipieller Unterschied des Kristallinitätsgrades zwischen Epi-, Meta- und Diaphyse konnte bei unseren Untersuchungen nicht gefunden werden.

Alle Röntgendiagramme zeigten eine in etwa gleich scharfe Reflexausprägung für den Einzelknochen. Der Kristallinitätsgrad nimmt von den frühen Lebenstagen bis etwa zum 2. Lebensjahr stetig zu, unabhängig von dem Ort im einzelnen Knochen. (Über den Begriff der Kristallinität siehe weiter unten.)

In allen drei physiologisch unterscheidbaren Knochenabschnitten fand sich in Bezug auf die Mineralphasen kein nennenswerter Unterschied.

Das M engenverhältnis von Octocalciumphosphat zu Hydroxylapatit betrug in unseren Proben etwa 20 : 80.

Im Gegensatz zu TERMINE und POSNER konnten wir einen Unterschied zwischen Epi- und Metaphyse nicht beobachten. Wir können also den Befund von TERMINE und POSNER, daß das Mineral der Epiphyse weniger kristallin sei als das der Metaphyse, nicht bestätigen. Auch aus anderen Gründen ist das unwahrscheinlich, denn in der Metaphyse wächst ja gerade der Knochen, hier finden die meisten Umbauvorgänge statt. Das würde also bedeuten, daß man in der Metaphyse mehr junge Kristalle oder "junges Mineral" als endgültige finden müßte, in unserem Falle also mehr Octocalciumphosphat.

Auch das konnten wir nicht finden. Der Vorgang der Umwandlung muß also sehr schnell vor sich gehen. Dafür spricht auch, daß nach ein- einhalb Jahren dieser Vorgang, obwohl der Knochen sich ja fortwäh- rend umbaut und einen dauernden und recht aktiven Stoffwechsel be- sitzt, fast abgeschlossen ist. Zwar besteht noch ein Unterschied zwischen einem halb- und einem anderthalbjährigen Knochen in Be- zug auf Kristallgröße und Menge, danach sind aber diese Vorgänge schon abgeschlossen.

G: Kristallinität

Die Kristallinität des Knochens, wie schon bekannt, nimmt mit dem Alter laufend zu, etwa bis zum 30. Lebensjahr. Der Begriff Kristallinität ist in diesem Zusammenhang so zu verstehen, daß einmal darunter die Menge kristallinen Materials in einem bestimmten Volumen dafür angesehen werden kann, auf der anderen Seite aber auch die durchschnittliche Größe der Kristallindividuen. Wir fanden, daß bis zu etwa eineinhalb Jahren maximal die Kristallindividuen statistisch durchschnittlich an Größe zunehmen. Das heißt, beim halbjährigen Knochen finden sich gegenüber dem anderthalbjährigen Kristallite, die durchschnittlich kleiner sind. Nach diesem Zeitabschnitt aber nimmt die Masse der Kristallite nicht mehr zu, obwohl sich auch hier wieder neue bilden, die dann erneut wachsen müssen. Daraus müssen wir schließen, daß die Durchschnittsgröße der Kristallite mit etwa eineinhalb Jahren schon erreicht ist. Wir können also zum Begriff der Kristallinität sagen:

Mit eineinhalb Jahren ist die Zunahme der kristallinen Substanz insofern abgeschlossen, als die einzelnen Kristallite durchschnittlich, nämlich in einer Menge bestimmten Volumens, nicht mehr an Größe zunehmen.

Daß dennoch die Kristallinität im Knochenvolumen zunimmt, ist nicht auf das Größerwerden der einzelnen Kristallindividuen zurückzuführen, sondern auf die Bildung neuer Kristalleinheiten. Es findet also kristallographisch ausgedrückt ein dauerndes Auskristallisieren neuer Kristalle statt, die dann nur bis zu einer bestimmten Durchschnittsgröße anwachsen.

Wahrscheinlich ist die durchschnittliche Größe dieser Kristalle bei 50 bis 150 Å zu sehen unter der nicht ganz korrekten Annahme eines würfelförmigen Habitus. Nach Erreichen dieser Größe nehmen die Kristalle dann nicht mehr zu. Normalerweise glaubte man beim alten Knochen erwarten zu können, daß bei den Aufnahmen stärkere Reflexpeaks auftreten. Dem aber ist nicht so, vielmehr blieben sie bei unseren Untersuchungen immer weiter breit, d.h., die ein-

zelnen Kristallindividuen bleiben in der Tat klein. Es besteht demnach zwischen einem eineinhalbjährigen und einem 65 Jahre alten Knochen im Prinzip kein Unterschied mehr, d.h., unabhängig von Epi-, Meta- und Diaphyse bleiben die Kristalle klein. Das besagt weiterhin, daß die Kristallite nach einer bestimmten Größe, die sie bereits nach eineinhalb Jahren erreicht haben, nicht weiter wachsen. Was danach an zusätzlichen Kristallen auftritt, ist ein Auskristallisieren von neuen Kristallen über wahrscheinlich die Octocalciumphosphat-Phase. Diese nimmt höchstwahrscheinlich mit dem Alter ab.

H. Klinische Schlußfolgerungen

Unsere Befunde sind auch von physiologischer Bedeutung:

Je kleiner die Kristalle sind, desto größer ist ihre Oberfläche und damit ihre Reagibilität, d.h. ihre Reaktionsfähigkeit mit der umgebenden Gewebsflüssigkeit. Man kann also beispielsweise sagen: je kleiner die Kristalle sind, um so schneller und leichter wird es möglich sein, schwankende Calciumspiegel im Blut auf den normalerweise konstant gehaltenen Wert von 10 mg % wieder zurück zu bringen. Größere Kristalle dagegen haben eine größere Bindungsenergie im Kristallgitter. Sie sind dadurch fester als die kleinen. Bei den großen Kristallen lassen sich dadurch die Calciumatome schon sehr viel schwerer herausziehen.

Es ist also physiologisch wichtig, die Kristalle klein zu halten; ja es ist sogar sinnvoll. Einerseits erfüllen sie ihre statische Funktion damit einwandfrei, sie verfestigen die kollagenen Fibrillen auch in dieser Größenordnung, sie machen den Knochen fest. Andererseits haben sie darüber hinaus noch die wichtige physiologische Aufgabe, schnell reagibel zu sein, und das über das ganze Leben hinweg. Daraus erscheint unsere Schlußfolgerung einleuchtend, daß sich alter Knochen in Bezug auf seine physiochemische Reagibilität mit der Umgebung gegenüber einem jungen Knochen nur geringfügig unterscheidet. Das gilt allerdings nur insofern, als daß das einzelne Mineral im Erwachsenen- wie im Jugendalter gleich reagiert. Der jugendliche Knochen hat aber auf der anderen Seite einen höheren Wassergehalt und ist dadurch reaktionsfähiger als älterer Knochen. Kleine Kristalle reagieren schnell mit der sie umgebenden Gewebsflüssigkeit, und zwar deshalb, weil sie insgesamt gesehen größere Oberflächen besitzen, aber auch mehr "Leerstellen" und mehr "Defekte" aufweisen als größere Kristalle.

Unter Leerstellen (oder auch Fehlordnungen) versteht man unvollständig besetzte Gitterplätze, die sowohl durch einen Überschuß (auf Zwischengitterplätzen) als auch Unterschluß am ionaren und atomaren Bauelement hervorgerufen werden können (BRAUNS).

Bezugnehmend auf die Therapie ist es nach dem gerade Gesagten nicht mehr einleuchtend, einen osteoporotischen Knochen mit Fluor zu behandeln.

Fluor macht die Kristalle größer, es ist ein Kristallbildner, besser ein Kristallisator, d.h., Fluor verfestigt die Bindungen zwischen den einzelnen Ionen im Kristallgitter, vor allem aber läßt es die einzelnen Kristallite an Größe zunehmen. Leider wird heute immer noch die Osteoporose mit Fluor behandelt.

Nach K. LITTLE liegt bei der Osteoporose nur sogenannter "reifer" Apatit vor, d.h., es finden sich da schon kaum noch andere Phasen als Apatit. Die Knochenkristalle hätten also bei der Osteoporose, kristallographisch gesehen, das Endstadium erreicht, und nun noch künstlich im Knochen größere Kristalle zu erzeugen, wäre völlig sinnlos. Man würde den Knochen ja noch spröder machen, als er ohnehin schon ist. Will man einen gesunden Knochen haben, so sind die "jüngeren" Minerale wie Brushit und Octocalciumphosphat absolut notwendig. Es ist also gänzlich kontraindiziert, den sowieso schon relativ hohen Anteil fester reaktionsträger Substanz durch Fluor noch zu erhöhen. Zwar ergibt sich röntgenoptisch gesehen eine Verdichtung des Knochens und damit eine (scheinbare) Erhärtung desselben, der Knochen nimmt jedoch in Wahrheit in seiner Stabilität ab: Er wird brüchiger. Festkörpermechanisch gesprochen wird der Knochen spröder, er reagiert auch längst nicht mehr so gut auf kleine Abweichungen in der interstitiellen Gewebsflüssigkeit.

Es ist also verfehlt, den Kristallisationseffekt des Fluors anzuwenden, obwohl das in jüngerer Zeit empfohlen wurde.

Zusammenfassung

Vorliegende Untersuchungen sollten Stellung nehmen zu folgenden Fragen:

1. Weist die Mineralart im Knochen Unterschied auf in Abhängigkeit zum Lebensalter und der Knochenregion?
2. Ist der Kristallinitätsgrad von Knochenabschnitt zu Knochenabschnitt unterschiedlich, und zeigt er Beziehungen zum Lebensalter?

Unter Zunahme des Kristallinitätsgrades kann einmal verstanden werden die Vermehrung kristallinen Materials in einem bestimmten Volumen durch Vergrößerung der einzelnen Kristallindividuen, zum anderen durch numerische Zunahme der durchschnittlich in etwa gleich großen Kristallite.

Zur Klärung dieser Fragen wurden Kaninchen verschiedenen Alters und 65-jähriger menschlicher Knochen röntgendiffraktometrisch untersucht.

Diese Untersuchungen brachten folgende Ergebnisse:

1. In allen Proben konnten Apatit und Octocalciumphosphat ($\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$) nachgewiesen werden, unabhängig vom Alter und der Lokalisation. Wenn auch im ganz jungen Knochen (< 2 Jahre) Octocalciumphosphat relativ leicht vermehrt gefunden wurde, so blieb nach dem 2. Lebensjahr das Verhältnis von Octocalciumphosphat zu Apatit in etwa konstant.
2. Ein Unterschied im Verhältnis dieser beiden Minerale von Knochenregion zu Knochenregion (Epi-, Meta-, Diaphyse) fand sich nicht.
3. Der Kristallinitätsgrad im Knochen nimmt bis etwa zum 2. Lebensjahr zu.
4. Diese Zunahme des Kristallinitätsgrades ist nicht Folge einer Vergrößerung der einzelnen Kristallindividuen sondern bedingt durch Vermehrung der einzelnen Kristallite.

5. Ein unterschiedlicher Kristallinitätsgrad zwischen Epi-, Meta- oder Diaphyse fand sich nicht.

Auf die physiologische und pathophysiologische Bedeutung dieser Befunde wird kurz eingegangen.

Literaturverzeichnis

- Brauns, R., CHUDoba, K.F. -Allgemeine Mineralogie-Sammlung
Götschen, Band 29/29a
- Brown, W.E., Nylen, M.U. -Role of Octocalcium Phosphate in
Formation of Hard Tissue, -repre-
sented at Intern. Assoc. Dental.
Res. Los Angeles (1964)
- Brown, W.E. -Octocalcium Phosphate and Hydroxy
apatite-Nature Vol. 196,15. (1962)
- Carlström, D. -X-Ray Crystallographic Studies on
Apatites and Calcified Structures-
Acta Radiol.suppl. 121 (1955)
- Carlström, D., Angström, A. -Ultrastructure and Distribution
of Mineral Salts in Bone-In: The
Biochemistry and Physiology of
Bone. Bourne, G.H., Acad.Press.
Inc. NY: 1956
- Dallemagne, M. -Le Calcium dans le squelette et
les dents-In: Z.M. BacQ (ed) Hand-
buch der experimentellen Pharmako-
logie. Bd. 17/2, S. 273-482, Ber-
lin-Heidelberg-NY: Springer 1964
- Dixon, T.F., Perkins, H.F. -The Chemistry of calcification.
In Bourne: S. 287 ff.
Bourne, C.H.: The biochemistry and
physiology of bone. New York-Aca-
demia Press 1956
- Eanes, E.D., Gillessen, J.H., -Intermediate States in the Preci-
Posner, A.S. pitation of Hydroxyapatite.
Nature (London) 208,1 (1965)
- Eastoe, J.E. The Organic Matrix of Bone-In: The
Biochemistry and Physiology of Bone.
Bourne, G.H., Acad.Press.Inc.NY:1956

- Fleisch, H., Blackwood, J. -Calcified Tissue-Springer-Berlin-Heidelberg-NY: 1965
- Fleisch, H. -Physiologie und Biochemie der Knochenbildung-MMW 11, Heft 7, 1966
- Hayek, E., Stadelmann, W. -Angewandte Chemie 67, 327 (1955)
- Henry, N.F., Lipson, H., Wooster, W.A. -The Interpretation of X-Ray Diffraction Photographs-New York 1960
- Little, K. -Persönliche Mitteilung
- Kleber, W. -Einführung in die Kristallographie-Berlin: Verl.Technik 1956
- McConnell, D. -The Crystal Structure of Bone-Clin.Orthop. 23,253-268 (1962)
- McGregor, J., Brown, W.E. -Blood: Equilibrium in Calcium Homeostasis-Nature 205,1 (1965)
- McLean, F.C., Urist, M. -Bone - University of Chicago Press 1955
- Mehmel, M. -The Structure of Apatite Z. Krist. 75, 323 (1930)
- Menczel, J., Posner, A.S., Harper, R.A. -Age Changes in the Crystallinity of Rat Apatites-Israel.Jour. Med. Sci. 1:251-252 (1966)
- Naray-Szabo, S. -Structure of Fluorapatite Z.Krist. 75, 387, 1930
- Neumann, W.F., Neumann, M.W. -The Chemical Dynamics of Bone Mineral-Chicago University Press 1958
- Newesely, H. -Monatsheft Chemie 91,1020 (1961)
- Newesely, H. -Umwandlungsvorgänge bei Calcium-Phosphaten - In: Fleisch, H.u.A.: Calcified Tissues 1965 Berlin-Heidelberg-New York: Springer Verlag 1966

Posner, A.S., Harper, R.A.,
Muller, S.A.

-Age Changes in the Cristal Chem-
istry of Bone Apatites - Ann.
NY. Acad. 1965 131, 1.2.

Posner, A.S., Fabry, D.,
Dalleman, M.J.

-Defect Apatite Series in Synthe-
tic and Natural Calcium Phospha-
tes: The Concept of Pseudoapatites-
Biochem.Biophys.Acta. 15:304
(1954)

Posner, A.S.

-The Nature of the Inorganic Phase
in Calcified Tissues-In: R.F. Sog-
naes (ed) Calcification in Biolo-
gical Systems, p.373-394. Washing-
ton: Amer.Ass.Advance.Sci 1960

Posner, A.S. Stutman, J.M.

-Hydrogen Bonding in Calcium Phos-
phates-Nature 193, 368-369 (1962)

Robinson, R.A., Watson, M.L.

-Collagen-Cristal Relationship in
Bone as Seen in the Electron
Microscope-Anat.Recorf., 114,383
(1952)

Termine, F., Posner, A.S.

- Science 153 : 1529 (1966)

Ich danke Herrn Dr. med. K.J. Münzenberg für die Überlassung des Themas und vor allem für seine allzeit freundliche Bereitschaft, mich mit Rat und Tat zu unterstützen.

Herrn Prof. Dr. H. Rössler danke ich für die Übernahme des Korreferates.

Lebenslauf

Am 19. Mai 1940 wurde ich, Joachim Artur Bliesener als zweiter Sohn des Bankbeamten Max Paul Bliesener und seiner Ehefrau Elise Bliesener, geborene Rauh, in Berlin geboren. Im Jahre 1944 wurden meine Mutter, mein Bruder und ich nach Königshofen/ im Grabfeld (Bayern) evakuiert. Hier wurde ich 1946 eingeschult. 1949 zogen wir nach Frankfurt, 1950 nach Düsseldorf um. In Düsseldorf kam ich auf das Neusprachliche Rethel-Gymnasium. Die Oberstufe verbrachte ich im Monschauer Alumnat. Am 4. März 1961 bestand ich im Städtischen St. Michael-Gymnasium Monschau das Abitur.

Mein Medizinstudium absolvierte ich, bis auf ein Sommersemester 1964 in Kiel, vollständig in Bonn. Hier bestand ich am 2. August 1962 die Naturwissenschaftliche Vorprüfung, am 5. März 1964 die ärztliche Vorprüfung und am 18. Juli 1967 beendete ich mein Studium mit der Ablegung des ärztlichen Staatsexamens.

Danach begann ich meine Pflichtassistentenzeit an der Chirurgischen Universitätsklinik Bonn.

